

PCT

世界知的所有権機関

国際事務局



特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5 C12P 21/08, C07K 15/28 // C12N 15/06, 15/13, 15/62, (C12P 21/08, E12R 1:91)	A1	(11) 国際公開番号 WO 94/20632 (43) 国際公開日 1994年9月15日(15.09.94)
(21) 国際出願番号 PCT/JP94/00371 (22) 国際出願日 1994年3月9日(09. 03. 94) (30) 優先権データ 特願平5/78913 1993年3月11日(11. 03. 93) JP (71) 出願人(米国を除くすべての指定国について) 財団法人化学及血清療法研究所 (JURIDICAL FOUNDATION THE CHEMO-SERO- THERAPEUTIC RESEARCH INSTITUTE)(JP/JP) 〒860 熊本県熊本市清水町大塚668番地 Kumamoto, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人(米国についてのみ) 江田康幸(EDA, Yasuyuki)(JP/JP) 〒861-11 熊本県菊池郡合志町豊岡2012-88 Kumamoto, (JP) 前田浩明(MAEDA, Hiroaki)(JP/JP) 〒862 熊本県熊本市武蔵ヶ丘4丁目18 公団4-609 Kumamoto, (JP) 牧角啓一(MAKIZUMI, Keiichi)(JP/JP) 〒860 熊本県熊本市清水町兎谷360-277 Kumamoto, (JP) 塩先巧一(SHIOSAKI, Kouichi)(JP/JP) 〒861-11 熊本県菊池郡合志町幾久富1866-734 Kumamoto, (JP) 長富 深(OSATOMI, Kiyoshi)(JP/JP) 〒851-01 長崎県長崎市かき道4丁目30-14 Nagasaki, (JP)	来海和彦(KIMACHI, Kazuhiko)(JP/JP) 〒861-11 熊本県菊池郡合志町幾久富1904-749 J-304 Kumamoto, (JP) 樋口浩文(HIGUCHI, Hirofumi)(JP/JP) 〒869-11 熊本県菊池郡菊陽町津久礼2335番地 津久礼アパートC-205号 Kumamoto, (JP) 時吉幸男(TOKIYOSHI, Sachio)(JP/JP) 〒862 熊本県熊本市若菜3丁目14-19 Kumamoto, (JP) (74) 代理人 弁理士 青山 隆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP) (81) 指定国 AU, BB, BG, BR, CA, CN, CZ, FI, HU, JP, KR, LK, MG, MN, MW, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SK, UA, US, 欧州特許(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). 添付公開書類 国際調査報告書 請求の範囲の修正の期限前であり、修正受領の際には再公開される。	

(54) Title : ANTI-HIV MONOCLONAL ANTIBODY

(54) 発明の名称 抗HIVモノクローナル抗体

(57) Abstract

The invention provides a clinically useful monoclonal antibody which can recognize the conserved region of the V3-PND region of a glycoprotein antigen (gp120) having a molecular weight of about 120,000 Da and contained in the coat of a human immunodeficiency virus (HIV) and which can neutralize a wide variety of HIV variants, or a fragment of the above antibody, and chimera and humanized antibodies derived from the above antibody. It is possible to prepare a monoclonal antibody having the activity of neutralizing various HIV variants by using as the immunogen several types of peptides having a PND tip region containing a GPGR sequence having a high conservability in the PND region of the gp120 of an HIV. It is possible to obtain a chimera antibody or an altered antibody having an anti-HIV neutralization activity effective for clinical application by transplanting a fragment of a gene coding for the variable region of the above monoclonal antibody or the complementarity-determining region of that region to a human antibody gene.

(57) 要約

ヒト免疫不全ウイルス(H I V)の外皮膜にある分子量約12万ダルトンの糖蛋白質抗原(gp120)のV 3 - P N D領域の保存領域を認識し、広範囲の各種H I V変異株を中和する能力を有する臨床的に有用なモノクローナル抗体またはその断片、及びそのキメラ化及びヒト型化抗体を提供する。H I Vのgp120のP N D内で保存性の高いGPGR配列を含有するPNDチップ領域を有する複数種のペプチドを免疫原とすることにより、多くのH I V変異株に対して中和活性を有するモノクローナル抗体を調製することができる。該モノクローナル抗体の可変領域をコードする遺伝子断片または当該領域の相補性決定基(C D R)をヒト抗体遺伝子に移植することによって、臨床応用に有効な抗H I V中和活性を有するキメラ抗体または改変抗体が得られる。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AM	アルメニア	CZ	チェッコ共和国	KP	朝鮮民主主義人民共和国	NZ	ニュー・ジーランド
AT	オーストリア	DE	ドイツ	KR	大韓民国	PL	ポーランド
AU	オーストラリア	DK	デンマーク	KZ	カザフスタン	PT	ポルトガル
BB	バルバドス	EE	エストニア	LJ	リヒテンシュタイン	RO	ルーマニア
BE	ベルギー	ES	スペイン	LK	スリランカ	RU	ロシア連邦
BF	ブルキナ・ファソ	FI	フィンランド	LT	リトアニア	SD	スーダン
BG	ブルガリア	FR	フランス	LU	ルクセンブルグ	SE	スウェーデン
BJ	ベナン	GA	ガボン	LV	ラトヴィア	SI	スロヴェニア
BR	ブラジル	GB	イギリス	MC	モナコ	SK	スロヴァキア共和国
BY	ベラルーシ	GE	グルジア	MD	モルドバ	SN	セネガル
CA	カナダ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TD	チャード
CF	中央アフリカ共和国	GR	ギリシャ	ML	マリ	TG	トーゴ
CG	コンゴ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	TJ	タジキスタン
CH	スイス	IE	アイルランド	MR	モーリタニア	TT	トリニダード・トバゴ
CI	コート・ジボアール	IT	イタリア	MW	マラウイ	UA	ウクライナ

明 細 書

抗H I Vモノクローナル抗体

技術分野

本発明はウイルス感染の予防、治療、診断、並びに生化学及び組織学の研究に有用な新規物質を提供する免疫学的技術に関する。さらに詳細には、後天性免疫不全症候群（エイズ）の原因ウイルスと認められるヒト免疫不全ウイルス（H I V）に対して広範囲の中和スペクトルを有するモノクローナル抗体及び該抗体を分泌するハイブリドーマ及びその製法に関する。

さらには該抗体を臨床に応用するためにヒト型化した組換えモノクローナル抗体に関する。

背景技術

ヒト免疫不全ウイルス（H I V）は、後天性免疫不全症候群（エイズ）およびエイズ関連症候群（A R C）等の一連の疾患の原因であるヒトレトロウイルスである。今日、これらの疾患は世界的に大きな問題となっているが、これらに有効なワクチンや確固とした治療法はまだ提供されていない。

H I Vに対する抗ウイルス剤としては、核酸アナログの逆転写酵素阻害剤3'-azido-2',3'-dideoxythymidin (A Z T) や2',3'-dideoxyinosin (d d I) が用いられており、ウイルスの増殖抑制効果、CD4陽性細胞数の増加、延命等の治療効果が観察されている。しかしながら、これらの薬物によるエイズの治療効果は部分的或いは一時的である場合も多く、また造血系の細胞に対する毒性や増殖抑制を示す事から、結果として不全に陥った免疫系を再構築するのを制限している場合も少なくなく、このような観点から、一層有効な抗H I V剤の開発が望まれている。

抗体は、ヒトをはじめ哺乳動物の免疫反応をつかさどる重要なタンパク

質であり、外部から侵入してくる異物やその生体が異物として認識する物質を除去（中和）する機能を有することから、感染症治療薬としての期待も大きい。

カーパス（Karpas）らは、健常H I V感染患者由来の抗H I V抗体をエイズ患者に投与することによって、臨床症状の緩和を認めた（Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, p. 9234(1989), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, p. 7613(1990)）。また、ジャクソン（Jackson）らも同様の結果を得ている（Lancet, 2, p. 647(1988)）。これらの結果は、エイズにおける抗体療法の有用性を示している。

このような受動免疫療法とは別に、H I Vのコンポーネントワクチンを感染者に能動免疫し、免疫能力を上げる治療方法も試みられている（AIDS Res. Hum. Retroviruses, 8, P1051(1992)）。この場合、病状の進展していない患者においては治療効果が認められたが、CD4陽性細胞が減少しエイズが進行した患者においては能動的な免疫応答ができないために有意な効果は認められなかった。従って、エイズのように病状の進展した患者においては受動免疫療法に頼らざるを得ず、ここに中和抗体が大きな意味を持つことになる。

H I Vを中和する抗体の認識するエピトープは、H I Vの外皮膜に存在する分子量約12万ダルトンの糖蛋白質抗原（gp120）、分子量約41000ダルトンの膜貫通糖蛋白質抗原（gp41）及び分子量約17000ダルトンの核蛋白質抗原（p17）に存在している。なかでも、gp120の第3可変領域（V3）に存在するエピトープ（アミノ酸番号303～338）は主要中和領域（Principal Neutralization Determinant; PND）とも呼ばれ、強力な中和抗体を誘導するエピトープであり、治療薬或いはワクチン開発の主要なターゲットとなっている。

質であり、外部から侵入してくる異物やその生体が異物として認識する物質を除去（中和）する機能を有することから、感染症治療薬としての期待も大きい。

カーパス（Karpas）らは、健常H I V感染患者由来の抗H I V抗体をエイズ患者に投与することによって、臨床症状の緩和を認めた（Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, p. 9234(1989), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, p. 7613(1990)）。また、ジャクソン（Jackson）らも同様の結果を得ている（Lancet, 2, p. 647(1988)）。これらの結果は、エイズにおける抗体療法の有用性を示している。

このような受動免疫療法とは別に、H I Vのコンポーネントワクチンを感染者に能動免疫し、免疫能力を上げる治療方法も試みられている（AIDS Res. Hum. Retroviruses, 8, P1051(1992)）。この場合、病状の進展していない患者においては治療効果が認められたが、CD4陽性細胞が減少しエイズが進行した患者においては能動的な免疫応答ができないために有意な効果は認められなかった。従って、エイズのように病状の進展した患者においては受動免疫療法に頼らざるを得ず、ここに中和抗体が大きな意味を持つことになる。

H I Vを中和する抗体の認識するエピトープは、H I Vの外皮膜に存在する分子量約12万ダルトンの糖蛋白質抗原（gp120）、分子量約41000ダルトンの膜貫通糖蛋白質抗原（gp41）及び分子量約17000ダルトンの核蛋白質抗原（p17）に存在している。なかでも、gp120の第3可変領域（V3）に存在するエピトープ（アミノ酸番号303～338）は主要中和領域（Principal Neutralization Determinant; PND）とも呼ばれ、強力な中和抗体を誘導するエピトープであり、治療薬或いはワクチン開発の主要なターゲットとなっている。